

M 4444

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



Bescheinigung

Frau Dr. Ilse Chudoba in Jena/Deutschland hat eine Patentanmeldung unter der Bezeichnung

"Verfahren zum Nachweis von Änderungen in Biopolymeren"

am 16. Februar 1998 beim Deutschen Patent- und Markenamt eingereicht.

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patent- und Markenamt vorläufig die Symbole G 01 N, C 07 H und C 12 Q der Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 9. Februar 1999

Deutsches Patent- und Markenamt

Der Präsident

Im Auftrag

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Jerofsky".

Aktenzeichen: 198 06 303.2

Jerofsky

Anmelderin: Dr. Ilse Chudoba

"Verfahren zum Nachweis von Änderungen in Biopolymeren"

Unser Zeichen: C 3907 - py / ba

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zum Nachweis von Änderungen in Biopolymeren, insbesondere in chromosomaler DNA, unter Verwendung von zwei oder mehreren unterschiedlichen Sätzen von markierten Detektormolekülen sowie einen diagnostischen Kit zum Nachweis dieser Änderungen.

5

Die Darstellung menschlicher Chromosomen wird bisher mit Bänderungstechniken durchgeführt, die eine spezifische Erkennung der Chromosomen anhand von hellen und dunklen Banden erlauben (z.B. "G-banding, Q-banding, R-banding"). Diese Bänderungstechniken basieren auf Verfahren, die von Caspersson et al. (Exp. Cell Res. 60, 1970, 315-319), Sumner et al. (Nature 232, 1971, 31), Seabright et al. (Lancet 2, 1971, 971-972) und Dutrillaux et al. (C R Acad. Sci. Paris, 272, 1971, 3638-3640) entwickelt wurden. Mit diesen Verfahren kann jedoch die Identität einzelner chromosomaler Banden nicht in jedem Fall definiert werden, da alle Banden von allen Chromosomen lediglich entweder hell oder dunkel erscheinen. Dies erweist sich als ein wesentlicher Nachteil, da Chromosomen von Zelle zu Zelle und von Gewebe zu Gewebe morphologisch sehr unterschiedlich sein können und u.U. Translokationen (zum Beispiel bei Tumoren) aufweisen, deren Erkennung für die zu untersuchende Person von besonderer Bedeutung sein kann. Dies gilt beispielsweise für die Realisierung von Kinderwunsch bei balancierten Translokationen ("Chromosomenstücktauschen") eines Elternteils, für die Erkennung der Ursache von Fehlbildungen bei Kindern mit und ohne geistige Retardierung und für die Diagnostik von Leukämien und anderer Tumoren, die häufig spezifische chromosomale Veränderungen von diagnostischer und therapeutischer Bedeutung aufweisen.

10
15
20
25

Als Vorschlag zur Lösung dieser Problematik wurde von Pinkel et al. (Proc. Natl.

Acad. Sci. USA 83, 1986, 2934-2938) die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) erstmals für die Routine in praktikabler Form beschrieben. Mit diesem Verfahren können heute durch den Einsatz chromosomenspezifischer DNA-Banken alle menschlichen Chromosomen einer Metaphase in jeweils unterschiedlichen Farben dargestellt werden (chromosome painting, 24-colour-FISH, Schröck et al., Science 273, 1996, 496-497; Speicher et al. Nature Genet. 12, 1996, 368-375), und durch den Einsatz von Vektoren, beispielsweise Cosmiden, Pac's oder YAC's, die unterschiedliche Mengen an menschlicher DNA enthalten können, spezifische chromosomal Regionen erneut über Vielfarbentechniken mittels FISH in ihrer Integrität überprüft werden. Auch Teile von Genen und repetitive DNA-Elemente lassen sich über diesen Weg auf ihre chromosomale Lokalisation hin und auf ihr Vorhandensein bzw. Fehlen nachweisen. Eine mehrfarbige ("multicolor")-Darstellung um chromosomal Abschnitten auf Bandenniveau ist bisher jedoch nicht möglich.

15

Somit liegt der vorliegenden Erfindung die Aufgabe zugrunde, ein neues bzw. verbessertes Verfahren zum Nachweis von insbesondere Änderungen in chromosomaler DNA bereitzustellen, das eine mehrfarbige Darstellung auf Bandenniveau ermöglichen soll.

20

Diese Aufgabe wird durch die in den Ansprüchen gekennzeichneten Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung gelöst.

25

Insbesondere wird ein Verfahren zum Nachweis von Änderungen in Biopolymeren als Zielmoleküle unter Verwendung von zwei oder mehreren unterschiedlichen Sätzen von markierten Detektormolekülen bereitgestellt, wobei jeweils mindestens zwei Sätze für einen bestimmten Bereich in den Zielmolekülen spezifisch sind und die Markierungen der jeweiligen Detektormoleküle diese für einen bestimmten Bereich in den Zielmolekülen spezifischen Sätze unterschiedlich sind, umfassend die Schritte

30

- (a) Durchführen von Bindungsreaktionen zwischen den Detektormolekülen der unterschiedlichen Sätze und den Zielmolekülen, wobei die

jeweiligen markierten Detektormoleküle von mindestens zwei Sätzen derart an einen bestimmten Bereich der Zielmoleküle binden, daß sich die unterschiedlichen Markierungen der Detektormoleküle überlappen, und

5

- (b) qualitative und quantitative Auswertungen der so erhaltenen Bindungen über die unterschiedlichen Markierungen der Detektormoleküle.

10

Der Begriff "Biopolymere als Zielmoleküle" bedeutet DNA, vorzugsweise chromosomal DNA, RNA oder Polypeptide. Die Zielmoleküle können vor Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens insbesondere vor Schritt (a) entsprechend angeordnet bzw. immobilisiert werden, beispielsweise durch gelelektrophoretische Auf trennung in einer geeigneten Matrix oder Fixierung bzw. Anordnung von beispielsweise Metaphase-Chromosomen oder Interphase-Kernen auf einen geeigneten Träger.

15

Der Begriff "markierte Detektormoleküle" bedeutet Nukleinsäuren oder Antikörper, die jeweils mindestens eine Markierung aufweisen. Die Antikörper können

20

polyklonal oder monoklonal vorliegen. Die Begriffe "Nukleinsäure" bzw. "Nukleinsäuresequenz" bzw. "Nukleinsäuresonden" bedeuten native, halbsynthetische oder modifizierte Nukleinsäuremoleküle aus Desoxyribonukleotiden und/oder Ribonukleotiden und/oder modifizierten Nukleotiden wie Aminonukleotiden oder [α -S]-Triphosphatnukleotiden. In einer bevorzugten Ausführungsform

25

der vorliegenden Erfindung stammen die Nukleinsäuren von chromosomaler DNA aus beispielsweise Säugern wie homo sapiens sapiens. Die chromosomale DNA

30

als Detektormoleküle liegt in Vektoren, z.B. Cosmide oder YAC's vor, oder stammt aus chromosomalen bzw. Chromosomenregion-spezifischen DNA-Banken, die beispielsweise über Mikrodissektionsverfahren oder Laser aktivierte flußcytometrische Sortierung von spezifischen Chromosomen und, wenn erforderlich, nachfolgender Amplifikation durch beispielsweise DOP-PCR erhalten werden können.

Der Begriff "Markierung" bedeutet geeignete, direkt oder indirekt nachweisbare Atome oder Moleküle, die in die Detektormoleküle eingebaut oder damit verbunden sind. Geeignete Markierungen sind beispielsweise solche, die an Nukleotide gekoppelte Fluoreszenzfarbstoffe und/oder beispielsweise Biotin und/oder Digoxigenin und/oder mit radioaktiven Isotopen markierte Nukleotide umfassen. In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Markierungsverbindung ein Fluoreszenzfarbstoff mit einer zur Selektion kleiner Substanzmengen ausreichendem Unterschied im Fluoreszenzverhalten der Emissionsspektren, wie z.B. Cumarine und Rodamine und/oder der Fluoreszenzlebensdauer wie, z.B. Fluoreszenzisothiocyanate und Europium-Chelat-markierte und/oder Porphirin-markierte Avidine.

Der Begriff "Bindungsreaktion" bedeutet eine Hybridisierung, vorzugsweise eine *in-situ*-Hybridisierung, oder eine Antigen/Antikörper-Reaktion, abhängig von der Wahl der Detektormoleküle und/oder der Zielmoleküle. Der Begriff "*in-situ*-Hybridisierung" bedeutet die Anlagerung einer synthetisch erzeugten und mit biologischen, physikalischen oder chemischen Markierungen zur Detektion versehenen DNA/RNA-Sonde als Detektormolekül an native in der Natur vorkommende DNA/RNA-Sequenzen, wobei die Anlagerung durch Denaturierung und Renaturierung der entsprechenden Nukleinsäuren erreicht wird. Selbstverständlich enthalten diese DNA/RNA-Sonden mindestens einen zur Hybridisierung an eine DNA/RNA-Sequenz des Zielmoleküls, wie ein Chromosom, befähigten Sequenzabschnitt. Dieser Sequenzabschnitt weist einen spezifischen, einzeln vorliegenden, vorzugsweise 100 bis 1.000 Basenpaare langen Sequenzbereich des Detektormoleküls auf, der sich an einen komplementären Bereich des Zielmoleküls bei einer geeigneten Temperatur, vorzugsweise bei 50°C oder weniger, und bei einer geeigneten Salzkonzentration, die vorzugsweise 50-300 mmol/l einwertige Ionen und 0-10 mmol/l zweiwertige Ionen enthält, unter Ausbildung von Wasserstoffbrücken anlagert. Die Bindungsreaktion der jeweiligen Sätze von markierten Detektormolekülen kann gleichzeitig oder aufeinanderfolgend durchgeführt werden.

Der Ausdruck "Satz von Detektormolekülen" bedeutet Detektormoleküle, die für einen bestimmten Bereich der Zielmoleküle spezifisch sind. Dieser Satz von

Detektormolekülen kann beispielsweise in Vektoren vorliegende chromosomale DNA oder eine chromosomenspezifische DNA-Bank sein. Die Markierung der Detektormoleküle im Satz können gleich oder unterschiedlich sein, beispielsweise drei unterschiedliche Markierungen enthalten.

5

Der Ausdruck "mindestens zwei oder mehrere unterschiedliche Sätze von markierten Detektormolekülen" bedeutet das Vorliegen von mindestens einem Paar von unterschiedlichen Sätzen, wobei die Sätze dieses Paares in einem bestimmten Bereich bzw. Region der Zielmoleküle derart binden, daß sich mindestens die unterschiedlichen Markierungen der jeweiligen Detektormoleküle, vorzugsweise die Bindungsstellen der jeweiligen Detektormoleküle dieser unterschiedlichen Sätze überlappen. Diese erfindungsgemäße Eigenschaft von einem Paar unterschiedlicher Sätze bedeutet, daß die jeweiligen Detektormoleküle in den unterschiedlichen Sätzen eines Paares, welches aus diesem bestimmten Bereich der Zielmoleküle überlappend hergestellt bzw. gewonnen werden, als Standard bzw. zur vergleichenden Untersuchung mit entsprechend aufgearbeiteten Proben von Patienten verwendet werden können. In einer erfindungsgemäßen Ausführungsform sind die Detektormoleküle eines Satzes vorzugsweise derart gestaltet, daß nach der Hybridisierung die Detektormoleküle in kontinuierlich veränderter Konzentration, vorzugsweise in Art einer Gaußschen Verteilung, in Längsrichtung an die Zielmoleküle, beispielsweise Chromosomen, gebunden sind.

25

20

25

30

Die in Schritt (b) des erfindungsgemäßen Verfahrens gekennzeichnete qualitative und quantitative Auswertung der in Schritt (a) erhaltenen Bindungen über die unterschiedlichen Markierungen der Detektormoleküle kann unter Verwendung einer Abtasteinrichtung bzw. einer Vorrichtung zum gerichteten Abtasten, beispielsweise entlang bzw. in Längsrichtung des zu untersuchenden Chromosoms, verwendet werden. Eine derartige Abtasteinrichtung ist beispielsweise ein Fluoreszenzmikroskop. Über die physikalischen und/oder chemischen und/oder biologischen Markierungen der Detektormoleküle, die sich an die gewünschten Zielmoleküle angelagert haben, können durch die Abtasteinrichtung bilderzeugende Signale über eine Bildverarbeitungseinheit, beispielsweise eine CCD-Kamera, aufgenommen werden, welche computergestützt die einzelnen Signale der

unterschiedlichen Markierungen in geeigneter Weise verarbeitet. Mit dieser an die Abtastvorrichtung gekoppelten Bildverarbeitungseinheit können die Intensitäten bzw. die Intensitätsverhältnisse der unterschiedlichen Markierungen in den Bereichen von überlappenden und nicht-overlappenden Markierungen der jeweiligen Detektormoleküle vorzugsweise in Längsrichtung der Zielmoleküle, insbesondere von fixierten Metaphase-Chromosomen, aufgezeichnet und qualitativ sowie quantitativ ausgewertet werden.

Ein weitere Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein diagnostischer Kit zum Nachweis von Änderungen in vorstehend definierten Biopolymeren als Zielmoleküle, enthaltend mindestens zwei unterschiedliche Sätze vor markierten Detektormolekülen gemäß vorstehenden Definitionen.

Der erfindungsgemäße Kit kann insbesondere zum Nachweis bzw. Ausschluß von chromosomal Abänderungen in der Humangenetik, wie balancierter Chromosomenrearrangements, die bekanntermaßen von großer Bedeutung für die Verwirklichung von Kinderwunsch bei Trägern einer solchen Veränderung sind, balancierter und unbalancierter Chromosomenveränderungen als Ursache für Fehlbildungen und/oder mentaler Retardierung, und in der Tumordiagnostik sowohl solider Tumore als auch hämatologischer Neoplasien (AML, ALL, MDS u.a.) einerseits zur Erfassung bekannter, prognoserelevanter Veränderungen andererseits zur Bestimmung weiterer, bisher unbekannter Veränderungen eingesetzt werden.

Die Figuren zeigen:

Fig. 1 ist eine photographische Darstellung zur qualitativen und quantitativen Auswertung der Lokalisation von Region-spezifischen Färbungen in Chromosom 5. Im oberen Teil dieser Figur ist die Verteilung der markierten Detektormoleküle in Längsrichtung des Chromosoms sowie Intensitäten der unterschiedlichen Markierungen der Detektormoleküle graphisch dargestellt.

Fig. 2 ist eine tabellarische Darstellung des Markierungsmusters des in Fig. 1 dargestellten Region-spezifischen Chromosomenabschnitts von Chromosom 5. Cy5, TR(Texas Red), Cy5.5, SO (Spectrum Orange), SG (Spectrum Green) sind die verschiedenen Fluoreszenz-Farbstoffe, die zum Markieren der einzelnen regionspezifischen DNA-Banken verwendet wurden. Die Zuordnung ist durch eine ausgefülltes Quadrat (■) gekennzeichnet. Die durch die Überlappung der DNA-Banken sich ergebende Markierungen in den entsprechenden Bereichen ist durch ein leeres Quadrat (□) kenntlich gemacht.

10



Fig. 3 zeigt jeweils die homologen normalen Chromosomen 5 aus zwei verschiedenen Metaphaseplatten mit mehrfarbiger Bänderung. Die Darstellung macht deutlich, daß das Bänderungsmuster auf den homologen Chromosomen identisch ist und auch von Metaphaseplatte zu Metaphaseplatte reproduzierbar ist.

15

20



Fig. 4 zeigt eine photographische Darstellung einer Vielfarben-FISH einer Metaphaseplatte mit komplexen chromosomalen Abänderungen.

25

Fig. 5 zeigt Chromosomen 5 in einem Fall mit akuter myeloischer Leukämie. Auf der linken Seite ist jeweils das normale Chromosom 5 dargestellt, das Chromosom auf der rechten Seite zeigt eine interstitielle Deletion im langen Arm.

25

Das folgende Beispiel erläutert die Erfindung.

Beispiel

30 Für das Vielfarben-Bandenmuster von Chromosom 5 wurden insgesamt 7 überlappende Chromosomenregion-spezifische Mikrosezierungsbanken hergestellt (Meltzer et al., Nature Genet. 1, 1992, 24-28). Der p-Arm von Chromosom 5 wurde hierfür in zwei, der q-Arm in vier Regionen unterteilt. Pro Chromosomen-

region wurden jeweils 8-10 Fragmente mit einer fein ausgezogenen Glasnadel vom Objektträger unter mikroskopischer Sicht isoliert (Senger et al., Hum. Genet. 84, 1990, 507-511). Die so gewonnene DNA wurde über eine DOP-PCR (degenerate oligonucleotide polymerase chain reaction, Telenius et al., Genomics 13, 1992, 718-725; Zhang et al., Blood 81, 1993, 3365-3371) amplifiziert.

In einer Folgereaktion wurden diese Chromosomenregion-spezifischen DNA-Banken teilweise direkt mit Fluorochromen, die an Nukleotide gekoppelt vorliegen, markiert (z.B. Spectrum Orange-dUTP, Spectrum Green-dUTP, beide Vysis, und Texas Red-dUTP, Molecular Probe). Zum anderen Teil wurden DNA-Banken mit Nukleotiden markiert, die mit Hapteten (z.B. Biotin-dUTP und DigoxigenindUTP, Boehringer, Mannheim) gekoppelt sind. Nach erfolgter Hybridisierung können Haptene mit geeigneten Detektionsreagenzien (z.B. Avidin-Cy5, Amersham und Anti-Digoxigenin IgG, Boehringer, Mannheim, der an Cy5.5 gekoppelt ist, Mab-labeling kit, Amersham) detektiert werden.

15

Die Hybridisierung, Waschschritte und Detektion erfolgen nach Standardprotokollen (Senger et al., Cytogenet. Cell. Genet. 64, 1993, 49-53).

20

Die Analyse wird z.B. mit einem Fluoreszenzmikroskop durchgeführt, das mit geeigneten Filtersätzen ausgestattet ist. Von jedem Farbkanal werden separat Bilder aufgenommen, die anschließend mit einem Computer weiterbearbeitet werden können.

25

Ein charakteristisches Merkmal der Teil- "painting"-Sonden, die durch Mikrosezung gewonnen werden, ist ein sich kontinuierlich abschwächendes Fluoreszenzsignal in den Randbereichen. Durch gleichzeitiges Überlappen der Sonden und damit der Fluoreszenzsignale zweier benachbarter Teil- "painting"-Sonden kommt es zu einem sich kontinuierlich verändernden Verhältnis der Fluoreszenzintensitäten entlang von Chromosom 5. Wird ein so gefärbtes Chromosom in mehrere (20-25) kleine Abschnitte unterteilt, so kann über ein geeignetes Rechenprogramm jedem dieser Sektoren auf der Basis der relativen Fluoreszenzintensitäten aller verwendeten Fluorochrome eine Falschfarbe zugeordnet werden. Durch diese Zuordnung kommt es zu einem farblichen Bandenmuster entlang eines Chromo-

soms, in diesem Fall von Chromosom 5. Bei allen weiteren Hybridisierungen mit dem selben Probenset kann die gleiche Kombination von Fluoreszenzverhältnissen und Falschfarben verwendet werden.

- 5 Da die Hybridisierung sich ausreichend konstant verhält, ist auch das Bandenmuster entsprechend reproduzierbar (Figur 3). Ein Verlust des Auflösungsvermögens bei kürzeren Chromosomen, wie es von bislang üblichen Bänderungsverfahren (z.B. GTG-Bänderung) bekannt ist, wird hierbei nicht beobachtet. Für das Chromosom 5 wird ein reproduzierbares Muster von mindestens 25 Banden erreicht.
- 10 Dies entspricht einem Bandenniveau von ca. 550 Banden pro haploiden Chromosomensatz.

Mit Hilfe dieses Verfahrens ist es möglich Veränderungen an Chromosomen nachzuweisen unabhängig von ihrem Kondensationszustand. Dies ist vor allem 15 auch in der Tumorzytogenetik von Bedeutung. Tumorchromosomen zeigen oft eine geringe Auflösung des Bandenmusters, wodurch ein Erkennen von chromosomal Veränderungen wesentlich erschwert ist. Es ist daher anzunehmen, daß bislang unbekannte zytogenetische Veränderungen in Tumoren vorliegen, die möglicherweise einen wichtigen Prognosefaktor darstellen und daher z.B. für 20 eine risikoangepaßte Therapie von Bedeutung sein könnten. Erfindungsgemäß können auch an Tumorchromosomen nach Hybridisierung mit dem oben näher beschriebenen Probenset für das Chromosom 5 mindestens 25 Banden erreicht werden (Figur 5).

Anmelderin: Dr. Ilse Chudoba

"Verfahren zum Nachweis von Änderungen in Biopolymeren"

Unser Zeichen: C 3907 - py / py / ba

Ansprüche

1. Verfahren zum Nachweis von Änderungen in Biopolymeren als Zielmoleküle unter Verwendung von zwei oder mehreren unterschiedlichen Sätzen von markierten Detektormolekülen, wobei jeweils mindestens zwei Sätze für einen bestimmten Bereich in den Zielmolekülen spezifisch sind und die Markierungen der jeweiligen Detektormoleküle dieser für einen bestimmten Bereich in den Zielmolekülen spezifischen Sätze unterschiedlich sind, umfassend die Schritte
 - (a) Durchführen von Bindungsreaktionen zwischen den Detektormolekülen der unterschiedlichen Sätze und den Zielmolekülen, wobei die jeweiligen markierten Detektormoleküle von mindestens zwei Sätzen derart an einen bestimmten Bereich der Zielmoleküle binden, daß sich die unterschiedlichen Markierungen der jeweiligen Detektormoleküle überlappen, und
 - (b) qualitative und quantitative Auswertung der so erhaltenen Bindungen über die unterschiedlichen Markierungen der Detektormoleküle.
2. Verfahren nach Anspruch 1, worin die Zielmoleküle vor Schritt (a) immobilisiert werden.
3. Verfahren nach Anspruch 2, worin die Zielmoleküle bzw. das Zielmolekül auf einem Träger oder in einer Matrix angeordnet sind.
- 25 4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, worin die Bindungsreaktionen der jeweiligen Sätze von markierten Detektormolekülen gleichzeitig oder aufeinanderfolgend durchgeführt werden.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die Bindungsreaktion in Schritt (a) eine Hybridisierung oder eine Antigen/Antikörper-Reaktion ist.
- 5 6. Verfahren nach Anspruch 5, wobei die Hybridisierung eine *in situ* Hybridisierung ist.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei die Zielmoleküle Nukleinsäuren oder Polypeptide sind.
- 10 8. Verfahren nach Anspruch 7, wobei die Nukleinsäuren aus DNA und RNA ausgewählt sind.
9. Verfahren nach Anspruch 7 oder 8, wobei die Nukleinsäuren chromosomale DNA sind.
- 15 10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, wobei die markierten Detektormoleküle aus Nukleinsäuren oder Antikörper ausgewählt sind.
- 20 11. Verfahren nach Anspruch 10, wobei die jeweiligen Sätze von Nukleinsäuren von unterschiedlichen chromosomenregion-spezifischen DNA-Banken stammen.
- 25 12. Verfahren nach Anspruch 10 oder 11, wobei jeder Satz von Detektormolekülen ein oder mehrere unterschiedliche Markierungen enthält.
13. Verfahren nach Anspruch 12, wobei die Markierung einen Fluoreszenzfarbstoff umfaßt.
- 30 14. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 13, wobei die Auswertung in Schritt (b) unter Verwendung einer Abtastvorrichtung durchgeführt wird, mit welcher die Intensitäten bzw. Intensitätsverhältnisse der Markierungen in den Bereichen von überlappenden und nicht-überlappenden Markierun-

gen der jeweiligen Detektormoleküle in Längsrichtung der Zielmoleküle aufgezeichnet werden.

15. Diagnostischer Kit zum Nachweis von Änderungen in Biopolymeren als Zielmoleküle, enthaltend mindestens zwei unterschiedliche Sätze von markierten Detektormolekülen gemäß Definition in einem der Ansprüche.
- 5
16. Verwendung des Kits nach Anspruch 15 zum Nachweis von chromosomalen Abänderungen in der Humangenetik und Tumordiagnostik.

Anmelderin: Dr. Ilse Chudoba

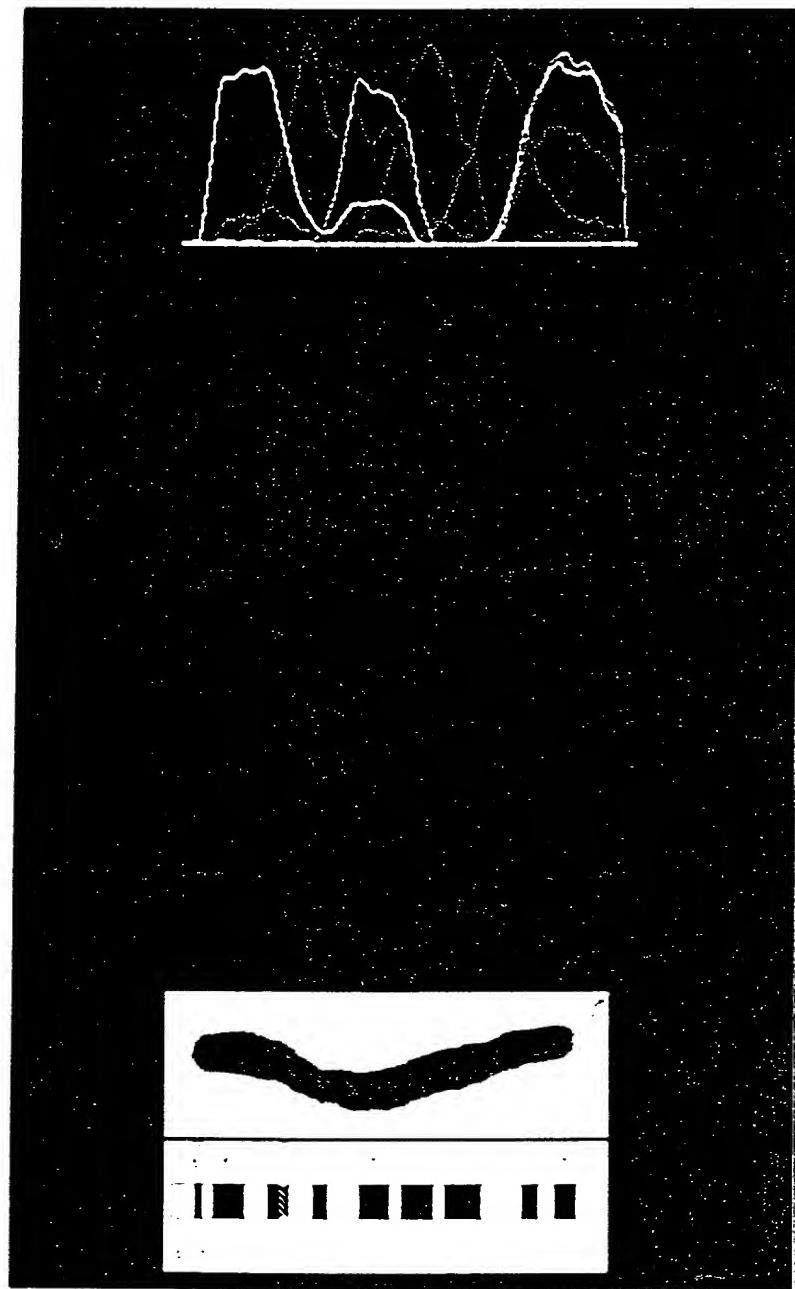
"Verfahren zum Nachweis von Änderungen in Biopolymeren"

Unser Zeichen: C 3907 - py / py

Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zum Nachweis von Änderungen in Biopolymeren, insbesondere in chromosomaler DNA, unter Verwendung von zwei oder mehreren unterschiedlichen Sätzen von markierten Detektormolekülen sowie einen diagnostischen Kit zum Nachweis dieser Änderungen.

Fig. 1



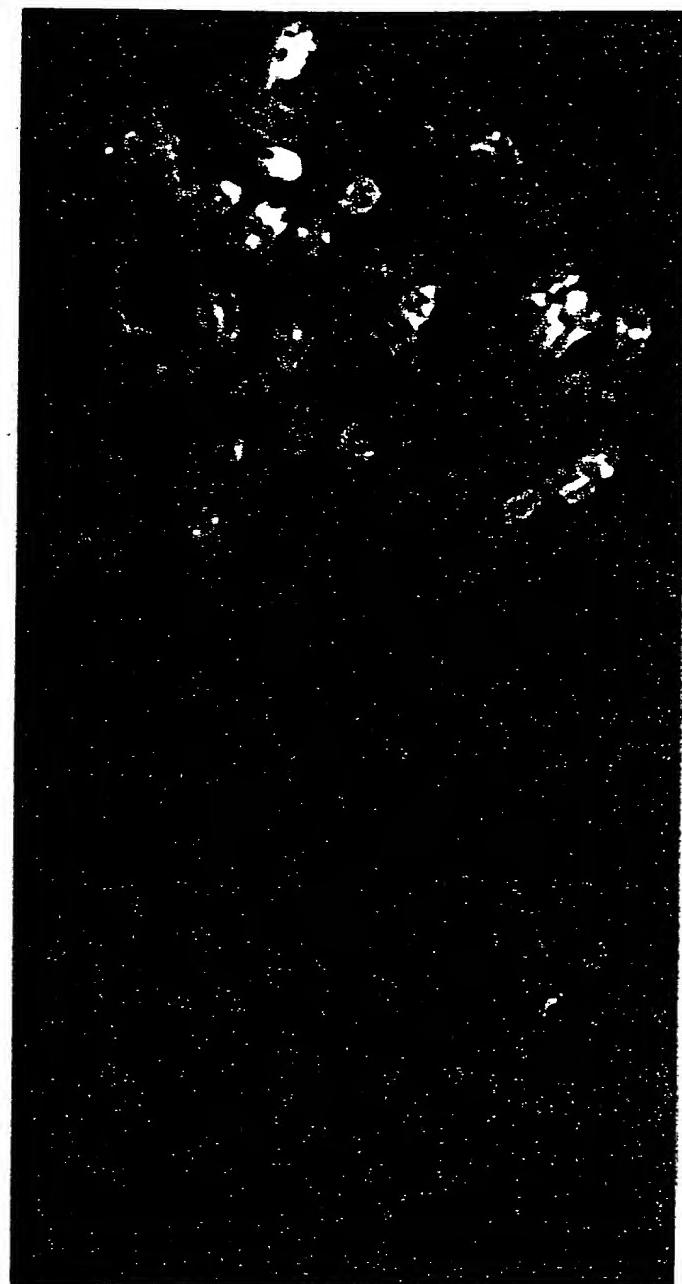


Fig. 4

Fig. 3



Fig. 5





Creation date: 02-04-2004

Indexing Officer: AJACKSON - ALVINA JACKSON

Team: OIPEBackFileIndexing

Dossier: 09250466

Legal Date: 04-19-1999

No.	Doccode	Number of pages
1	IDS	1
2	1449	1
3	FOR	25

Total number of pages: 27

Remarks:

Order of re-scan issued on